Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 4, Winter 2023, p. 583-592

The effect of Dietary L-carnitine on Semen Quality Parameters and Gonadosomatic and Hepatosomatic Indexes in Broiler Breeder Roosters

Vahid Mohammadi[1] ,Seyed Davood Sharifi[2]*, Mohsen Sharafi[3], Abdollah Mohammadi-Sangcheshmeh[4]

Received: 20-07-2020
Revised: 05-12-2021
Accepted: 12-01-2022
Available Online: 12-01-2022

How to cite this article:
Mohammadi, V., Sharifi, S.D., Sharafi, M., & Mohammadi-Sangcheshmeh, A. (2023). The effect of dietary L-carnitine on semen quality parameters and gonadosomatic and hepatosomatic indexes in broiler breeder. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *14*(4), 583-592.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.38308.0

Introduction Rooster's reproductive performance is an indispensable component of breeder production because it plays a vital role in the maximum production of fertilized eggs. Existence feed supplement in the poultry industry, intermediary metabolites have been including in the diet to improve fertility and reproductive outcomes. Carnitine (β-hydroxy-γ-trimethylaminobutyrate), vitamin-like-amino acid, is a quaternary ammonium compound, that has multifunctional roles in reproduction. High concentrations of L-carnitine (LC) are present in epididymal lumen, where it participates in sperm energy balance and the maturation of spermatozoa. In light of previously reported breeder birds supplemented with dietary LC have shown improvements in semen traits and fertility parameters. The present study is an attempt to investigate the effects of several levels of dietary LC supplementation on semen quality parameters and gonadosomatic and hepatosomatic indexes at maturity and production peak.

Materials and Methods For the present experiment, thirty-six Ross (12-week-old) breeder broilers were used for 22 weeks in a completely randomized design with three treatments (0, 250 and 500 mg L-carnitine in kg of diet) and twelve replications. All roosters were fed standard isocaloric (2754 kcal/kg) and isonitrogenous diet (12 % protein). The birds for 22 weeks in a completely randomized design with three treatments (0, 250 and 500 mg / kg of LC in the diet) and six replications were used. During the adaptation period (21-24 weeks of age), the roosters were trained by abdominal massage for semen collection. After the experimental period was commenced (24 weeks of age), semen samples were collected and evaluated for seminal attributes every two weeks (from week 24 to week 34). The following parameters were determined immediately after the semen collection; to measure the semen samples were collected weekly to evaluate semen volume, total motility, membrane functionality, mitochondria activity parameters. Also, to determine gonadosomatic and hepatosomatic indexes at 24 and 34 weeks of age, six birds in each treatment weighing then were slaughtered and immediately the testes and liver were removed and weighed.

Results and Discussion The highest sperm motility (96.60%) was observed in birds fed 250 mg LC ($P<0.04$). By increasing the level of LC in the diet, sperm membrane functionality improved linearly (6.8% increase compared to control) ($P <0.04$). A linear trend ($P = 0.06$) was observed in mitochondrial activity with increasing levels of LC in the diet (69.31, 72.00 and 76.25). LC plays an essential role in energy metabolism by carrying over fatty acids in the mitochondria matrix for β-oxidation producing energy. Therefore, it provides a

1- Ph.D, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agricultural Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agricultural Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agricultural Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.
*Corresponding Author Email: sdsharifi@ut.ac.ir

better supply of energy for spermatogenesis and normal physiology of sperm, are presumably improved by an optimum level of LC, as a result, sperm concentration and live. These data provide evidence that LC can be effectively used in diets up to 500 mg/kg of diet or 30 mg/kg of body weight /day for semen improvements of rooster's breeder. At 24 weeks of age, the changes in gonadosomatic index (0.55, 0.68 and 0.64) were affected by different levels of LC (P <0.01). During testis development in the chicken (from 2 to 15 weeks of age), there is no significant increase in testicular weight, however, the early stage is the most important period for testicular development. The mature testis has seminiferous tubules with a multilayered epithelium representing the different stages of spermatogenesis. Sexual maturity is associated with the highest testes weight and consequently with the highest plasma concentration of reproductive hormones. Gonads of the mature male broiler breeder are organized into separate, comfortably discernible cellular correlations and functional compartments. It has been accepted that steroid hormones biosynthesis and generation of spermatozoa are two major actions that the testicles fundamentally carry out. The improvements in gonadosomatic Index of roosters observed in this study in response to dietary LC may be attributed, at least partly, due to improved utilization of dietary nitrogen, achieved through more efficient fat oxidation by LC. Testicles contain the seminiferous tubules and the interstitial space. Seminiferous tubules are the functional elements of the testis and sertoli cells are the principal structural basis of the seminiferous epithelium, inhabiting on the substratum membrane.

Conclusion The addition of 250 and 500 mg of L-carnitine to the diet due to the increase in gonad index led to an improvement in sperm quality parameters at the beginning of the production period (puberty).

Keywords: Gonad Index, L-carnitine, Rooster, Sexual Maturity, Sperm

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد ١٤، شماره ٤، زمستان ١٤٠١، ص ٥٩٢-٥٨٣

اثرات ال-کارنیتین جیره‌ای بر فراسنجه‌های کیفی منی و شاخص‌های گنادی و کبدی خروس‌های مولد گوشتی

وحید محمدی[1]، سید داود شریفی[2*] ، محسن شرفی[3]، عبداله محمدی سنگ چشمه[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر سطوح مختلف ال-کارنیتین بر فراسنجه‌های کیفی منی و شاخص‌های گنادی و کبدی خروس در زمان بلوغ و پیک تولید بود. تعداد ۳۶ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس (۱۲ هفتگی) به‌مدت ۲۲ هفته، در یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (سطوح صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین) و دوازده تکرار استفاده شد. نمونه‌های منی برای ارزیابی حجم منی، جنبایی کل، فعالیت میتوکندری، سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به‌صورت هفتگی جمع‌آوری شد. همچنین، برای تعیین شاخص‌های گنادی و کبدی در سنین ۲۴ و ۳۴ هفتگی چهار پرنده در هر تیمار پس از توزین کشتار و بیضه‌ها و کبد خارج و توزین شدند. بیشترین جنبایی اسپرم (۹۶/۶۰ درصد) مربوط به پرندگان تغذیه شده با ۲۵۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین بود. با افزایش سطح ال‌کارنیتین در جیره، سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به‌صورت خطی (۶/۸ درصد افزایش نسبت به شاهد) بهبود یافت. یک تمایل خطی در فعالیت میتوکندری با افزایش سطح ال‌کارنیتین در جیره مشاهده شد (۶۹/۳۱، ۷۲/۰۰ و ۷۶/۲۵). یک تمایل به معنی‌داری در شاخص گنادی (P=۰/۰۸) با تغذیه سطوح مختلف ال-کارنیتین مشاهده شد. به‌طور کلی، افزودن سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین به جیره به‌واسطه افزایش شاخص گناد منجر به بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم در ابتدای دوره تولید (بلوغ جنسی) شد.

واژه‌های کلیدی: اسپرم، ال‌کارنیتین، بلوغ جنسی، خروس، شاخص گنادی

مقدمه

در چند دهه اخیر، صنعت مرغ مادر گوشتی به‌طور قابل توجهی تغییر کرده است. اگر چه انتخاب ژنتیکی به همراه مدیریت، ضریب تبدیل غذایی و تولید گوشت را بهبود بخشیده‌اند؛ با این حال، تأخیر در بلوغ جنسی و کاهش باروری از نگرانی‌های عمده‌ای هستند که گله‌های مادر گوشتی با آن روبرو است (Brillard, 2004; Rosenstrauch *et al*., 1998; Xiong *et al*., 2009).

در سال‌های اخیر بیشتر مطالعات در زمینه گله‌های مادر گوشتی، به بررسی مشکلات تولیدمثلی و باروری در مراحل انتهایی دوره تولید متمرکز شده‌اند (Akhlaghi *et al*., 2018; Ali *et al*., 2017; Avital-Cohen *et al*., 2015; Kazemizadeh *et al*., 2019). در صورتی که در ابتدای دوره‌ی تولید پرنده از سیستم تناسلی تکامل‌یافته و باروری مناسبی برخوردار باشد، می‌تواند نوید بخش یک زندگی تولیدمثلی ایده‌آل پس از اوج تولید باشد. پرندگان با وزن پایین بدن اغلب بیضه توسعه نیافته‌ای دارند و در نهایت، نابارور در نظر گرفته می‌شوند (Xiong *et al*., 2009 Rosenstrauch *et al*., 1998;). در طول رشد و توسعه‌ی بیضه در سن ۲ تا ۱۵ هفتگی هیچ گونه افزایش معنی‌داری در وزن بیضه مشاهده نشد (Anastasiadou *et*

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- دانشیار گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- استادیار، گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۴- استادیار گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: sdsharifi@ut.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.2022.38308.0

al., 2011). با این حال، مراحل اولیه رشد، دوره‌ی خیلی مهمی برای توسعه بیضه است (Vizcarra *et al.*, 2010). بلوغ جنسی با بیشترین وزن بیضه و هورمون‌های جنسی در ارتباط است (Blaszczyk *et al.*, 2006; Tsutsui and Ishii., 1978;). توانایی بیضه در تولید اسپرم با شمار یاخته‌های سرتولی تنظیم می‌شود و تولید روزانه اسپرم با شمار یاخته‌های سرتولی و اسپرماتوگونی به‌ازای هر بیضه ارتباط دارد (Okwun *et al.*, 1996). سلول‌های سرتولی مواد مغذی و انرژی مورد نیاز سلول‌های بنیادی جهت انجام فرآیند اسپرماتوژنسیز را فراهم می‌نماید (Rato *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2009). مسیر اصلی تولید انرژی در سلول‌های سرتولی بتااکسیداسیون اسیدهای چرب است (Xiong *et al.*, 2009).

ال‌کارنیتین، ترکیب چهار آمینی بسیار مهمی است که در ماهیچه اسکلتی، قلب، مغز و بیضه ذخیره می‌شود. مسیر متابولیکی ال‌کارنیتین برای انتقال مولکول‌های اسید چرب -کوآنزیم آ به داخل ماتریکس میتوکندری برای شروع فعالیت بتااکسیداسیون، که ATP را جهت عملکرد مداوم سلول تولید می‌کند، ضروری است (Tsutsui and Ishii., 1978). بنابراین، ال‌کارنیتین نقش‌های چندگانه‌ای در متابولیسم واسطه‌ای طیور ایفا می‌کند که از آن جمله می‌توان به بهبود عملکرد رشدی، پاسخ‌های ایمنی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و کیفیت اسپرم اشاره نمود (Adabi *et al.*, 2011). ال‌کارنیتین یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی عملکرد سلول‌های سرتولی می‌باشد (Palmero *et al.*, 2000). اگر چه، مطالعات پیشین اثرات مفید ال‌کارنیتین بر کیفیت منی را در خروس مسن گزارش کردند (Elokil *et al.*, 2019; Neuman *et al.*, 2002)، تا به‌حال، هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر مکمل ال‌کارنیتین در جیره جوجه‌خروس‌ها بر صفات کیفی منی و شاخص‌های گنادی و کبدی در زمان بلوغ و پیک تولید گزارش نشده است. علاوه‌براین، جیره‌ی طیور اساساً یک ماهیت گیاهی دارد و از لحاظ ال‌کارنیتین فقیر است و از طرفی، متیونین و لایزین به‌ترتیب اولین و دومین اسیدآمینه محدودکننده در جیره پرندگان هستند (Arslan, 2006). از این رو، به نظر می‌رسد با گنجاندن ال‌کارنیتین به جیره جوجه‌خروس‌های نابالغ بتوان به بافت بیضه توسعه‌یافته‌ای در پرندگان دست یافت و در نهایت، عملکرد تولید مثلی را بهبود بخشید. بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف ال‌کارنیتین در جیره جوجه‌خروس‌های نابالغ بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم و شاخص‌های گنادی و کبدی خروس در زمان بلوغ و پیک تولید صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۳۶ قطعه خروس والد سویه راس (۱۲ هفتگی) با میانگین وزن ۸۵± ۱۹۷۵ گرم، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (سطوح صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ال-کارنیتین در جیره) و ۱۲ خروس در هر تیمار (شش تکرار) به‌مدت ۲۲ هفته انجام شد. خروس‌ها در قفس‌های جداگانه انفرادی نگه‌داری شدند و اندازه‌ی قفس‌ها ۷۵×۶۰×۷۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. در ابتدای آزمایش تا ۱۸ هفتگی هشت ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی اعمال گردید و به تدریج تا سن تحریک نوری (۲۱ هفتگی) ساعات روشنایی به ۱۴ ساعت افزایش یافت. خروس‌ها به‌مدت دو هفته برای عادت‌دهی با جیره استاندارد تغذیه شدند. جیره خروس‌ها بر اساس احتیاجات توصیه شده در کاتالوگ راس ۳۰۸ تنظیم شد (جدول ۱). پس از سه هفته عادت‌دهی خروس‌ها به انزال با روش مالش شکمی، اسپرم‌گیری از خروس‌ها در بازه زمانی هشت هفته از سن ۲۶ تا ۳۴ هفتگی، انجام و پس از رقیق‌سازی، فراسنجه‌های کیفی اسپرم سنجش شد (Burrows and Quinn., 1937). منی پس از ۲۰ برابر رقیق شدن با محیط رقیق‌کننده بلتسویل (دی پتاسیم فسفات (۴۳ میلی‌مولار)، سدیم گلوتامات (۵۱ میلی‌مولار) ، فروکتوز (۲۷ میلی‌مولار)، سدیم استات (۳۹ میلی‌مولار)، تریس (۱۳ میلی‌مولار)، پتاسیم استات (۶/۵ میلی‌مولار)، مونو پتاسیم فسفات (۵/۱ میلی‌مولار)، کلراید منیزیم (۳۷ میلی‌مولار)، و سه درصد گلیسرول، با اسمولاریته ۳۱۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم و pH برابر ۷/۱) برای تعادل دمایی به‌مدت دو ساعت در داخل یخچال با دمای پنج درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (Fattah *et al.*, 2017). حجم منی توسط میکروتیوپ‌های مدرج ۱/۵ میلی‌لیتری اندازه‌گیری شد. جنبایی کل با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگنمایی ۴۰۰ به‌روش چشمی بررسی گردید.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره پایه

Table 1- Ingredients and nutrient composition of basal diet

اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)	ماده خوراکی Edible material
ذرت Corn	69.00
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal	8.5
سبوس گندم Wheat bran	19.19
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.40
نمک Salt	0.32
صدف Shell	0.8
دی ال-متیونین DL Methionine	0.11
مکمل معدنی[۱] Mineral supplements[1]	0.25
مکمل ویتامینه[۲] Vitamin Supplement[2]	0.25
مواد مغذی محاسبه شده Calculated nutrients	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	2754
پروتئین (درصد) Crude protein (%)	12
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.7
فسفر (درصد) Available phosphorus (%)	0.35
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.15
ال-لایزین (درصد) Lysine (%)	0.45
دی ال-متیونین (درصد) DL-Methionine (%)	0.29
متیونین + سیستین (درصد) Methionine+ cysteine (%)	0.49

[۱] عرضه شده در کیلوگرم جیره: آهن: ۶۰ میلی‌گرم؛ منگنز: ۶ میلی‌گرم؛ روی: ۱۰۰ میلی‌گرم؛ ید: ۲؛ مس: ۱۰ میلی‌گرم؛ و سلنیم: ۰/۲ میلی‌گرم.

[۲] عرضه شده در کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E: ۱۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K_3: پنج میلی‌گرم؛ B_1: سه میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین: ۱۲ میلی‌گرم؛ نیاسین: ۱۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B_{12}: ۰/۰۴ میلی‌گرم؛ ویتامین D : ۳۰۰۰ واحدبین‌المللی؛ پانتوتنیک اسید: ۵۵ میلی‌گرم؛ پیرودوکسین: چهار میلی‌گرم؛ بیوتین: ۰/۲۵ میلی‌گرم؛ کولین کلراید: یک گرم.

[1] Supplied per kg of diet: Fe, 60 mg; Mn, 6 mg; Zn, 100 mg; I, 2 mg; cu,10 mg; and Se, 0.2 mg.

[2] Supplied per kg of diet: vitamin A, 12000IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K3, 5 mg, B1, 3 mg; riboflavin, 12 mg; niacin, 15 mg; vitamin B12, 0.04 mg; vitamin D, 3,000 IU;;; pantothenic acid, 55 mg; pyridoxine, 4 mg; biotin, 0.25 mg and Choline chloride, 1 g.

از آزمون تورم هیپواسموتیکی (HOST) برای بررسی عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. آزمایش هاس بر اساس اسمولاریته‌ی محیطی است که اسپرم در آن قرار می‌گیرد. اسمولاریته محیط مورد آزمایش ۱۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم و اسمولاریته مورد نیاز برای اسپرم، ۳۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم است. اسپرم‌هایی که غشای آن‌ها سالم است، با قرار گرفتن در یک محیط

با اسمولاریته پایین به‌سرعت واکنش می‌دهند و انتهای دم آن گره می‌خورد، امّا اسپرم‌های مرده و دارای غشای آسیب‌دیده هیچ واکنشی نسبت به این محیط نشان نمی‌دهند. در این آزمون، اسپرم‌هایی که انتهای دم آن‌ها گره می‌خورند، به‌عنوان اسپرم با عملکرد غشایی مناسب و آن‌هایی که واکنش نمی‌دهند، به‌عنوان اسپرم‌های با غشای آسیب‌دیده در نظر گرفته می‌شوند.

در این آزمایش برای بررسی فعالیت میتوکندری از روش ریول و مرود با کمی تغییر استفاده شد (Revell and Mrode., 1994). به‌طور خلاصه ۱۰ میکرولیتر از منی با ۲۰۰ میکرولیتر محلول هایپواسموتیک (۱۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم)، یک گرم سدیم سیترات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. سپس پنج میکرولیتر از محلول تهیه شده بر روی اسلاید قرار داده شد و لامل بر روی آن قرار گرفت. سپس اسلاید تهیه شده برای شمارش ۲۰۰ اسپرم در هر اسلاید به زیر میکروسکوپ انتقال یافت. درصد اسپرم با میتوکندری فعال به‌وسیله ردآمین (Rho) ۱۲۳ و پروپیدیوم یدید (PI) رویه تشریح شده توسط فتاح و همکاران (Fattah *et al.*, 2017)، ارزیابی شد. به‌صورت خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از محلول ردآمین ۱۲۳ (۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۳۰۰ میکرولیتر نمونه منی رقیق‌شده افزوده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق (تاریک) گذاشته شد. پس از آن نمونه‌ها سانتریفوژ شده (۵۰۰ گرم به‌مدت سه دقیقه) و پلت‌های اسپرم در ۵۰۰ میکرولیتر بافر تریس معلق شد. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول PI (۱میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به نمونه‌ها افزوده شد. در نهایت، تعداد اسپرم‌ها با میتوکندری فعال به‌وسیله نرم‌افزار فلوجو (FlowJo) به‌صورت سیگنال مثبت برای ردآمین ۱۲۳ و سیگنال منفی برای پروپیدیوم یدید با میکروسکوپ شناسایی شدند (Fattah *et al.*, 2017). برای بررسی شاخص‌های گنادی و کبدی در سنین ۲۴ و ۳۴ هفتگی به‌صورت مجزا، چهار قطعه پرنده از هر تیمار انتخاب و پس از توزین کشتار شدند. سپس به‌دقت بیضه‌ها و کبد، خارج و توزین شدند و در نهایت، شاخص‌های گنادی و کبدی با تقسیم وزن بافت‌ها به وزن بدن و ضرب آن در عدد ۱۰۰ محاسبه گردید (Arafa *et al.*, 2012; Ratri *et al.*, 2021; Sitasiwi *et al.*, 2021). داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی (مدل ۱)، با رویه GLM و همچنین شاخص‌های گنادی و کبدی با استفاده از طرح اندازه‌گیری‌های تکرارشونده و با رویه MIXED، نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه آماری شد. میانگین‌ها با کمک آزمون کنتراست خطی و درجه دوم در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج

نتایج مربوط به تأثیر سطوح مختلف مکمل ال‌کارنیتین بر حجم منی و فراسنجه‌های کیفی اسپرم در جدول ۲ نشان داده شده است.

جنبایی اسپرم تحت تاثیر سطوح مختلف ال-کارنیتین قرار گرفت ($P<0.05$). آزمون کنتراست تغییرات جنبایی اسپرم را به‌صورت درجه دوم با افزایش سطح ال‌کارنیتین در جیره نشان داد ($P<0.05$). به‌طوری‌که بیشترین جنبایی اسپرم در پرندگان تغذیه شده با سطح ۲۵۰ میلی‌گرم مشاهده شد. یک تمایل به معنی‌داری خطی در حجم منی بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($P=0.05$). همچنین، سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به‌صورت خطی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P<0.05$)، به‌طوری‌که با افزایش سطح ال‌کارنیتین در جیره درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم افزایش یافت. علاوه‌براین، یک تمایل به معنی‌داری خطی در فعالیت میتوکندری بین سطوح مختلف ال‌کارنیتین مشاهده شد ($P=0.06$).

جدول ۲– تأثیر مکمل جیره‌ای ال-کارنیتین بر فراسنجه‌های کیفی منی خروس‌های مادر گوشتی

Table 2- The effect of dietary L-carnitine supplementation on semen quality parameters in broiler breeder roosters

صفات Traits	ال‌کارنیتین (میلی‌گرم بر کیلوگرم) L-Carnitin (mg/kg)			میانگین خطای استاندارد[1] Standard error of mean	مقدار احتمال Probability value		
	0	250	500		تیمار Trt	خطی Linear	درجه دوم Quadratic
حجم منی (میلی‌لیتر) Sperm volume (ml)	0.362	0.460	0.475	0.082	0.13	0.08	0.44
جنبایی اسپرم (درصد) Sperm motility (%)	88.25[b]	96.60[a]	95.00[a]	3.48	0.018	0.02	0.04
فعالیت میتوکندری (درصد) Mitochondrial activity (%)	69.31	72.00	76.25	3.11	0.25	0.06	0.78
سلامت غشای پلاسمایی (درصد) Plasma membrane health (%)	74.90	80.00	79.70	2.99	0.08	0.04	0.17

[1] میانگین خطای آزمایش.

[1]Standard error of means.

نتایج مربوط به تأثیر سطوح مختلف مکمل ال‌کارنیتین بر شاخص گنادی و کبدی در جدول ۳ نشان داده شده است. داده‌ها نشان داد که اگر چه یک تمایل به معنی‌داری در شاخص گنادی (P =۰/۰۸) با تغذیه سطوح مختلف ال-کارنیتین مشاهده شد، با این حال تیمارهای آزمایشی تأثیر قابل توجهی بر شاخص‌های کبدی نگذاشتند. ولی شاخص‌های مذکور با افزایش سن به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند (P <۰/۰۵). اثر متقابل در هیچ کدام از فراسنجه‌های مورد بررسی معنی‌دار نبود.

جدول ۳– تأثیر مکمل ال-کارنیتین جیره‌ای بر شاخص‌های گنادی و کبدی خروس‌های مادر گوشتی

Table 3- The effects of dietary L-carnitine supplementation on GSI and HIS in-broiler breeder roosters

سطوح ال-کارنیتین (میلی‌گرم در کیلوگرم) Levels of LC (mg/kg)	سن (هفته) Age (week)	شاخص گنادی Gonadosomatic index	شاخص کبدی Hepatosomatic index
0	24	0.562	1.10
	34	0.69	1.15
250	24	0.681	1.19
	34	0.79	1.24
500	24	0.650	1.28
	34	0.77	1.33
میانگین خطای استاندارد Standard error of means.		0.051	0.132
		مقدار احتمال P-value	
تیمار Treat		0.08	0.15
زمان Time		<0.0001	<0.0001
زمان×تیمار Treat×Time		0.259	0.932

در هر ردیف میانگین‌ها با علامت نامشابه متفاوت هستند.

In each row, means with non-similar letters are different (P<0.05).

بحث

این تحقیق به‌منظور بررسی فراسنجه‌های کیفی اسپرم و شاخص‌های گنادی و کبدی خروس‌های تغذیه شده با سطوح مختلف ال‌کارنیتین صورت گرفت. نتایج نشان داد که تغذیه جوجه‌خروس‌های نابالغ با سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در سن ۲۴ هفتگی به‌ترتیب منجر به افزایش حدود ۲۲ و ۱۵ درصدی شاخص گنادی در سن بلوغ جنسی شده است. در مطالعه‌ای، استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در جیره خروس‌های مسن لگهورن به‌مدت پنج هفته، تنها هفت درصد وزن نسبی بیضه‌ها را افزایش داد (Neuman *et al.*, 2002). در این آزمایش، تأثیر مطلوب‌تر ال‌کارنیتین بر شاخص گنادها احتمالاً به‌دلیل تفاوت در سن و نژاد پرنده‌ها و طول دوره باشد. فعالیت سینرژیستی FSH و تستوسترون، با القای هیپرتروفی (بزرگ شدن) سلول‌های سرتولی منجر به افزایش وزن بیضه‌ای پرندگان می‌شود (Tsutsui and Ishii., 1978). داده‌های منتشر شده قبلی، افزایش این هورمون‌های جنسی را در پرندگان تغذیه شده با ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد نشان داد (Mohammadi *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر شاخص کبدی در پرندگان تغذیه شده با سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب ۸ و ۱۶ درصد بالاتر بود، اگر چه این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با این حال، این روند افزایشی شاخص کبدی همراستا با شاخص گنادی، بیانگر اهمیت کبد و متابولیسم چربی موجود در آن در ساخت و توسعه اندام‌های تناسلی است. در بسیاری از گونه‌ها، شاخص کبدی به‌عنوان شاخص مناسبی برای پیش‌بینی وضعیت گنادوسوماتیک و مقدار انرژی اختصاص یافته برای تولید مثل معرفی شده است (Yaragina and Marshall., 2000).

کارنیتین، ترکیبی است که در کبد، کلیه، و مغز از دو اسید آمینه ضروری لیزین و متیونین سنتز می‌شود. این شبه‌ویتامین با انتقال اسیدهای چرب به درون میتوکندری جهت بتااکسیداسیون، نقش مهمی در متابولیسم لیپید و تعادل انرژی ایفا می‌کند (Zammit *et al.*, 2009). به نظر می‌رسد، در این پژوهش افزایش شاخص کبدی در راستای نقش‌های ال‌کارنیتین در تنظیم هموستازی انرژی در کبد و

توسعه آن است (Borum, 1985). احتمالاً، پاسخ‌های وابسته به سن و وابسته به دوز به ال کارنیتین باید در نظر گرفته شود. در مطالعه حاضر، نقش ال‌کارنیتین بر شاخص‌های گنادی و کبدی در اوج تولید (سن ۳۴ هفتگی) نسبت به سن بلوغ جنسی (۲۴ هفتگی) خفیف‌تر بود. رشد و توسعه گنادهای خروس تا سن ۲۸ هفتگی افزایش می‌یابد و پس از آن کاهش یا ثابت می‌شود (Vizcarra et al., 2010). به نظر می‌رسد عدم اختلاف معنی‌دار در شاخص گنادی بین تیمارهای آزمایشی در مطالعه حاضر، به این دلیل است که بافت بیضه رشد و توسعه‌ی خود را تکمیل کرده است و احتمالاً تفاوت جزئی شاخص گنادی در اوج تولید به‌دلیل تأثیر مثبت ال‌کارنیتین بر رشد و توسعه بافت بیضه در سنین ۱۲ تا ۲۸ هفتگی باشد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ال–کارنیتین به‌ترتیب منجر به بهبود درحدود ۹ و ۷ درصد جنبایی اسپرم نسبت به پرندگان گروه شاهد شد. در توافق با این نتایج، استفاده از ۱۵۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در جیره اردک جنبایی اسپرم را حدود ۱۳ درصد افزایش داد (Al-Daraji and Tahir., 2014). ارتباط مثبتی بین ال‌کارنیتین و جنبایی اسپرم انسان گزارش شده است (Manssor et al., 2019). ال–کارنیتین از جمله ترکیبات مهم پلاسمای منی است که در طول عبور منی از اپیدیدیم غلظت آن افزایش یافته تا جایی که جنبایی اسپرم و توانایی باروری آن توسعه یابد (Jeulin et al., 1988). محققان دریافتند که تولید انرژی از طریق کانال میتوکندری برای جنبایی اسپرم ضروری است (Pena et al., 2009). مطالعات دیگر حاکی از آن است که ال‌کارنیتین به‌واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش جذب گلوکز توسط اسپرم موجب بهبود تحرک اسپرم شده است (; Rosenstrauch et al., 1998;Aliabadi et al., 2012).

در مطالعه حاضر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم خروس‌های تغذیه شده با ال‌کارنیتین نسبت به گروه شاهد بهبود یافت. در توافق با نتایج این مطالعه نشان داده شده است که افزودن یک یا دو میلی‌مولار ال‌کارنیتین به محیط رقیق‌کننده اسپرم منجر به بهبود عملکرد غشای اسپرم می‌شود (Elokil et al., 2019). غشای پلاسمایی اسپرم نقش اساسی در ظرفیت بارور شدن اسپرم ایفا می‌کند (Lenzi et al., 1996). ترکیبات لیپیدی عمده غشای اسپرماتوزوآها، فسفولیپیدها هستند که حاوی مقادیر بسیار زیادی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه می‌باشند (Kelso et al., 1997; Surai et al., 1998). بنابراین، اسپرماتوزوآ بیشتر مستعد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Fujihara and Koga., 1984; Sanocka and Kurpisz., 2004; Surai et al., 1998). در این حالت نیاز به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی کارآمد برای حفاظت در مقابل آسیب پراکسیداسیون و اختلال عملکرد اسپرم می‌باشد (Surai et al., 1998; Alonso-Alvarez et al., 2007).

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، این مطالعه شواهد متقاعدکننده‌ای در ارتباط با مزایای گنجاندن طولانی‌مدت ال–کارنیتین در جیره خروس‌های مولد گوشتی بر جنبایی اسپرم در اوایل دوره تولید (اوایل بلوغ جنسی) بواسطه بهبود شاخص گناد ارائه می‌دهد. بنابراین، به نظر می‌رسد رشد و توسعه بهینه گنادها در زمان بلوغ جنسی با فراسنجه‌های کیفی اسپرم میتواند در ارتباط باشد که در این مطالعه به‌خوبی تحت تأثیر سطوح ال–کارنیتین (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم) قرار گرفته است.

References

1. Adabi, S. G., Cooper, R. G., Ceylan, N., & Corduk, M. (2011). L-carnitine and its functional effects in poultry nutrition. *World Poultry Science Journal*, *67*(2), 277-296. https://doi.org/10.1017/S0043933911000304
2. Akhlaghi, A., Zhandi, M., Zaghari, M., & Sharideh, H. (2018). Dietary zinc oxide and 6-phytase effects on fertility rate in old broiler breeder hens. *Iranian Journal of Agriculture Science Technology*, *18*(2), 327-336. 20.1001.1.16807073.2016.18.2.11.1
3. Al-Daraji, H. J., & Tahir, A. O. (2014). Effect of L-carnitine supplementation on drake semen quality. *South African Journal of Animal Science*, *44*(1), 18-25. 10.4314/sajas.v44i1.3
4. Ali, E. A., Zhandi, M., Towhidi, A., Zaghari, M., Ansari, M., Najafi, M., & Deldar, H. (2017). Letrozole, an aromatase inhibitor, reduces post-peak age-related regression of rooster reproductive performance. *Animal Reprod Science*, *183*, 110-117. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.05.010
5. Aliabadi, E., Mehranjani, M. S., Borzoei, Z., Talaei-Khozani, T., Mirkhani, H., & Tabesh, H. (2012). Effects of L-carnitine and L-acetyl-carnitine on testicular sperm motility and chromatin quality. *Iranian journal of Reproductive Medicine*, *10*(2), 77.
6. Alonso-Alvarez, C., Bertrand, S., Faivre, B., Chastel, O., & Sorci. G. (2007). Testosterone and oxidative stress: the oxidation handicap phypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *274*(1611), 819-825. https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0673
7. Anastasiadou, M., Theodoridis, A., Avdi, M., & Michailidis, G. (2011). Changes in the expression of Toll-like receptors in the chicken testis during sexual maturation and Salmonella infection. *Animal Reproduction Science*, *128*(1-4), 93-99. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.003

8. Arafa, S., Chouaibi, M., Sadok, S., & El Abed, A. (2012). The influence of season on the gonad index and biochemical composition of the sea urchin Paracentrotus lividus from the Golf of Tunis. *The Scientific World Journal*, 2012. https://doi.org/10.1100/2012/815935
9. Arslan, C. (2006). L-Carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding: a review. *Revue Medicine Veterinaire*, *157*, 134-142.
10. Avital-Cohen, N., Heiblum, R., Rosenstrauch, A., Chaiseha, Y., Mobarkey, N., Gumułka, M., & Rozenboim, I. (2015). Role of the serotonergic axis in the reproductive failure associated with aging broiler breeder roosters. *Domestic Animal Endocrinology*, *53*, 42-51. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.04.001
11. Blaszczyk, B., Tarasewicz, Z., Udala, J., Gaczarzewicz, D., Stankiewicz, T., Szczerbińska, D., & Jasieniecka, J. (2006). Changes in the blood plasma testosterone and cholesterol concentrations during sexual maturation of Pharaoh quails. *Animal Science Papers and Reports*, *24*(3), 259-266.
12. Borum, P. R. (1985). Role of carnitine during development. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *63*(5), 571-576. https://doi.org/10.1139/y85-097
13. Brillard, J. P. (2004). Natural mating in broiler breeders: present and future concerns. *World's Poultry Science Journal*, *60*(4), 439-445. https://doi.org/10.1079/WPS200427
14. Burrows, W. H., & Quinn, J. P. (1937). The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, *16*(1), 19-24. https://doi.org/10.3382/ps.0160019
15. Elokil, A. A., Bhuiyan, A. A., Liu, H. Z., Hussein, M. N., Ahmed, H. I., Azmal, S. A., & Li, S. (2019). The capability of L-carnitine-mediated antioxidant on cock during aging: evidence for the improved semen quality and enhanced testicular expressions of GnRH1, GnRHR, and melatonin receptors MT 1/2. *Poultry Science*, *98*(9), 4172-4181. https://doi.org/10.3382/ps/pez201
16. Fattah, A., Sharafi, M., Masoudi, R., Shahverdi, A., Esmaeili, V., & Najafi, A. (2017). L-Carnitine in rooster semen cryopreservation: Flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm. *Cryobiology*, *74*, 148-153. https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.10.009
17. Fujihara, N., & Koga, O. (1984). Prevention of the production of lipid peroxide in rooster spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, *7*(4), 385-390. https://doi.org/10.1016/0378-4320(84)90023-X
18. Jeulin, C., Soufir, J. C., Marson, J., Paquignon, M., & Dacheux, J. L. (1988). Acetylcarnitine and spermatozoa: relationship with epididymal maturation and motility in the boar and man. *Reproduction, Nutrition, Developpement*, *28*(5), 1317-1327.
19. Kazemizadeh, A., Zare Shahneh, A., Zeinoaldini, S., Yousefi, A. R., Mehrabani Yeganeh, H., Ansari Pirsaraei, Z., & Akhlaghi, A. (2019). Effects of dietary curcumin supplementation on seminal quality indices and fertility rate in broiler breeder roosters. *British Poultry Science*, *60*(3), 256-264. https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1571165
20. Kelso, K. A., Redpath, A., Noble, R. C., & Speake, B. K. (1997). Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bulls. *Reproduction*, *109*(1), 1-6. https://doi.org/10.1530/jrf.0.1090001
21. Lenzi, A., Picardo, M., Gandini, L., & Dondero, F. (1996). Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. *Human Reproduction Update*, *2*(3), 246-256. https://doi.org/10.1093/humupd/2.3.246
22. Manssor, A. R. J., Al–Mahdawi, Z. M. M., & Hadi, A. M. (2019). The effect of treatment by L-carnitine for infertile men on semen parameters. *Tikrit Journal of Pure Science*, *24*(2), 30-36. **http://dx.doi.org/10.25130/tjps.24.2019.027**
23. Mohammadi, V., Sharifi, S. D., Sharafi, M., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., Shahverdi, A., & Alizadeh, A. (2021). Manipulation of fatty acid profiles in roosters' testes, alteration in sexual hormones, improvements in testicular histology characteristics and elevation sperm quality factor by L-carnitine. *Theriogenology*, *161*, 8-15. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.10.005
24. Moretti, S., Famularo, G., Marcellini, S., Boschini, A., Santini, G., Trinchieri, V., ... & De Simone, C. (2002). L-carnitine reduces lymphocyte apoptosis and oxidant stress in HIV-1-infected subjects treated with zidovudine and didanosine. *Antioxidants and Redox Signaling*, *4*(3), 391-403. https://doi.org/10.1089/15230860260196191
25. Neuman, S. L., Lin, T. L., & Heste, P. Y. (2002). The effect of dietary carnitine on semen traits of White Leghorn roosters. *Poultry Science*, *81*(4), 495-503. https://doi.org/10.1093/ps/81.4.495
26. Okwun, O. E., Igboeli, G. A. I. U. S., Ford, J. J., Lunstra, D. D., & Johnson, L. A. R. R. Y. (1996). Number and

function of Sertoli cells, number and yield of spermatogonia, and daily sperm production in three breeds of boar. *Reproduction*, *107*(1), 137-149. https://doi.org/10.1530/jrf.0.1070137

27. Oliveira, P. F., Sousa, M., Barros, A., Moura, T., & Da Costa, A. R. (2009). Intracellular pH regulation in human Sertoli cells: role of membrane transporters. *Reproduction*, *137*(2), 353-359. https://doi.org/10.1530/REP-08-0363
28. Palmero, S., Bottazzi, C., Costa, M., Leone, M., & Fugassa, E. (2000). Metabolic effects of L-carnitine on prepubertal rat Sertoli cells. *Hormone and Metabolic Research*, *32*(03), 87-90. 10.1055/s-2007-978596
29. Pena, F. J., Rodríguez Martínez, H., Tapia, J. A., Ortega Ferrusola, C., Gonzalez Fernandez, L., & Macias Garcia, B. (2009). Mitochondria in mammalian sperm physiology and pathology: a review. *Reproduction in Domestic Animals*, *44*(2), 345-349. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01211.x
30. Rato, L., Socorro, S., Cavaco, J. E., & Oliveira, P. F. (2010). Tubular fluid secretion in the seminiferous epithelium: ion transporters and aquaporins in Sertoli cells. *The Journal of Membrane Biology*, *236*(2), 215-224.
31. Ratri, P. R., Yulianti, A., & Restuti, A. N. S. (2021, March). The effect of chocolate drink to hepatosomatic index of diabetes mellitus induced rat. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 672, No. 1, p. 012074). IOP Publishing. DOI 10.1088/1755-1315/672/1/012074
32. Revell, S. G., & Mrode, R. A. (1994). An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, *36*(1-2), 77-86. https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)90055-8
33. Rosenstrauch, A., Weil, S., Degen, A. A., & Friedländer, M. (1998). Leydig cell functional structure and plasma androgen level during the decline in fertility in aging roosters. *General and comparative endocrinology*, *109*(2), 251-258. https://doi.org/10.1006/gcen.1997.7029
34. Sanocka, D., & Kurpisz, M. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *2*(1), 1-7.
35. Sitasiwi, A. J., Jannah, S. N., Isdadiyanto, S., Annisa, T., Hermawati, C. M., Sari, A. M., & Putra, M. A. D. (2021, July). Study of the pineapple peel vinegar potency in restoring the gonadosomatic index of the diabetic rats. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1943, No. 1, p. 012067). IOP Publishing. DOI 10.1088/1742-6596/1943/1/012067
36. Surai, P., Kostjuk, I., Wishart, G., Macpherson, A., Speake, B., Noble, R., ... & Kutz, E. (1998). Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. *Biological Trace Element Research*, *64*(1), 119-132.
37. Tsutsui, K., & Ishii, S. (1978). Effects of follicle-stimulating hormone and testosterone on receptors of follicle-stimulating hormone in the testis of the immature Japanese quail. *General and Comparative Endocrinology*, *36*(2), 297-305. https://doi.org/10.1016/0016-6480(78)90036-9
38. van Vlies, N., Tian, L., Overmars, H., Bootsma, A. H., Kulik, W., Wanders, R. J., ... & Vaz, F. M. (2005). Characterization of carnitine and fatty acid metabolism in the long-chain acyl-CoA dehydrogenase-deficient mouse. *Biochemical Journal*, *387*(1), 185-193. https://doi.org/10.1042/BJ20041489
39. Vizcarra, J. A., Kirby, J. D., & Kreider, D. L. (2010). Testis development and gonadotropin secretion in broiler breeder males. *Poultry Science*, *89*(2), 328-334. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00286
40. Weil, S., Rozenboim, I., Degen, A. A., Dawson, A., Friedländer, M., & Rosenstrauch, A. (1999). Fertility decline in aging roosters is related to increased testicular and plasma levels of estradiol. *General and Comparative Endocrinology*, *115*(1), 23-28. https://doi.org/10.1006/gcen.1999.7276
41. Xiong, W., Wang, H., Wu, H., Chen, Y., & Han, D. (2009). Apoptotic spermatogenic cells can be energy sources for Sertoli cells. *Reproduction*, *137*(3), 469. 10.1530/rep-08-0343
42. Yaragina, N. A., & Marshall, C. T. (2000). Trophic influences on interannual and seasonal variation in the liver condition index of Northeast Arctic cod (Gadus morhua). *ICES Journal of Marine Science*, *57*(1), 42-55. https://doi.org/10.1006/jmsc.1999.0493
43. Zammit, V. A., Ramsay, R. R., Bonomini, M., & Arduini, A. (2009). Carnitine, mitochondrial function and therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *61*(14), 1353-1362. https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.04.024